Aus dem Institut für Toxikologie und Embryonal-Pharmakologie
(WE 18, Klinikum Charlottenburg) der Freien Universität Berlin

Arbeitsgruppe für Teratologie und Embryologische Genetik
Leitung: Prof. Dr. Walter Kocher

DER EINFLUSS DES MÜTTERLICHEN GENOMS AUF DIE REALISATION CYSTOSTATISCH VERURSACHTER SKELETALER MISSBILDUNGEN BEI DER MAUS

Inaugural · Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Antje Springer
aus Berlin

1985

Aus dem Institut für Toxikologie und Embryonal-Pharmakologie
(WE 18, Klinikum Charlottenburg) der Freien Universität Berlin

Arbeitsgruppe für Teratologie und Embryologische Genetik
Leitung: Prof. Dr. Walter Kocher

Der Einfluß des mütterlichen Genoms auf die Realisation cystostatisch verursachter skeletaler Mißbildungen bei der Maus

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Antje Springer
aus Berlin

Referent: Prof. Dr. W. Kocher
Korreferent: Prof. Dr. K. Sperling

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 20.06.1985

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	5
II.	VERSUCHSDURCHFÜHRUNG UND UNTERSUCHUNGSMATERIAL	8
III.	ERGEBNISSE	11
	A) TEM-Behandlung am 10. Embryonaltag	11
	1) Embryoletalität	11
	2) Mißbildungen	11
	a) Praeaxiale Polydaktylie	11
	b) Mißbildungen an Wirbelsäule und Rippen	17
	c) Sonstige Mißbildungen nach Behandlung am 10. Embryonaltag	38
	B) TEM-Behandlung an früheren und späteren Embryonaltagen	40
	1) Letalität und Mißbildungen nach TEM-Behandlung am 9. und 9 1/2. Embryonaltag	40
	2) Mißbildungen nach TEM-Behandlung am 11. und 12. Embryonaltag	42
IV.	DISKUSSION	43
V.	ZUSAMMENFASSUNG	49
VI.	LITERATUR	50

I. EINLEITUNG

Im teratologischen Experiment ist die Realisation einer bestimmten Mißbildung nach Applikation eines Pharmakons abhängig

a) von der behandelten Tierart (FRASER, 1977),
b) von der Entwicklungsphase, in welcher behandelt wurde (Behandlungsphasen-Spezifität),
c) von der verabreichten Dosis,
d) vom mütterlichen und embryonalen Genom der Versuchstiere (zu b-d s. KOCHER, 1963, 1969, 1970, 1972).

Bei der Maus ist der letztgenannte Faktor (d) in Gestalt von Inzuchtstämmen züchterisch definiert im Experiment einsetzbar. Verschiedene Inzuchtstämme können bei gleichem experimentellem Vorgehen mehr oder weniger unterschiedliche teratologische Reaktionen aufweisen. Für die Erreichung möglichst gleichförmiger Versuchsergebnisse hat sich die Verwendung von F_1-Hybridenembryonen von Inzuchtstämmen besonders bewährt (KOCHER, 1977 a, b). Werden die dem Experiment vorausgehenden Kreuzungen in den beiden reziproken Möglichkeiten (A ♀ x B ♂ und B ♀ x A ♂) durchgeführt, so führen unterschiedlichen Qualitäten der beiden eingesetzten mütterlichen Genome zu unterschiedlichen teratologischen Reaktionen der Hybridenembryonen beider Kreuzungen.

In der vorliegenden Arbeit werden vergleichend die skeletalen Mißbildungen untersucht, die nach reziproken Kreuzungen der Inzuchtstämme CBA/JKch und C57Bl/6JKch durch Behandlung 10-tägiger Embryonen mit der alkylierenden Substanz Triäthylenmelamin (TEM) hervorgerufen worden waren. In begrenztem Umfang wurden zur Charakterisierung der Behandlungsphasen-Spezifität auch die Ergebnisse der Behandlung zu einem früheren und einem späteren Entwicklungszeitpunkt in die Untersuchung einbezogen.

Die teratogenen Wirkungen des TEM (das in der Krebsforschung eingesetzt worden war) beruhen, wie die anderer Alkylantien, vorwiegend in der selektiven Schädigung proliferativ aktiver embryonaler Bezirke; sie sind daher streng behandlungsphasen-spezifisch (KOCHER, 1963, 1969, 1970; KOCHER und SCHERSCHLICHT, 1970; SCHERSCHLICHT, 1973, 1975). Diese Behandlungsphasen-Spezifität tritt vor allem in den Abänderungen des skeletalen Extremitätenmusters in Erscheinung: TEM-Behandlung 10-tägiger Mäuseembryonen, bei welchen die Extremitätenanlagen noch relativ flache Knospen darstellen, führt unter geeigneten genetischen Voraussetzungen zur Ausbildung präaxialer Polydaktylie, während nach Behandlung in späteren Entwicklungsphasen Verlustmißbildungen im Autopodium entstehen.

Die in dieser Untersuchung als "Leitmißbildung" vorliegende präaxiale Polydaktylie ist von besonderem embryologischem und teratologischem Interesse: Zunächst eignet sie sich für vergleichende Untersuchungen der blastemischen und zelldynamischen Voraussetzungen normaler und abnormaler Extremitätenstrahlen-Muster. Diese Mißbildung wird bei der Maus nicht nur chemoteratologisch, sondern auch durch verschiedene Mutantengene monogen verursacht, sie tritt in verschiedenen Inzuchtstämmen genombedingt als Spontanmißbildung auf, und sie kann durch Zusammenwirken der verschiedenen Ursachen (Teratogen, Mutantengen, Genom) zustandekommen (KOCHER, 1977a, b). Es konnte bewiesen werden (KOCHER, 1972), daß die durch TEM hervorgerufene Polydaktylie eine echte Phänokopie des *py*-Mutantengen-Merkmals ist. Die präaxiale Polydaktylie der Maus ist damit ein außerordentlich günstiges Modell für das Studium des Phänokopieproblems bei Säugetieren.

Nachdem BLEY (1976) bei der Analyse der Skelette höchstexpressiver *py*-Mäuse pleiotrope Effekte der *py*-Genwirkung an der Wirbelsäule gefunden hatte, stellte sich die Frage, ob mit der durch TEM-Behandlung am 10. Embryonaltag experimentell erzeugten Polydaktylie entsprechende pleiotrope Effekte am Gesamtskelett einhergehen. So stellt die vorliegende Untersuchung nicht nur eine Bestandsaufnahme sämtlicher skeletaler Veränderungen nach TEM-Behandlung in der für

die Polydaktylie kritischen Phase in Abhängigkeit vom mütterlichen Genom und von der Behandlungsdosis dar, sondern sie ist darüber hinaus ein Beitrag in der Erschließung des Phänokopieproblems (KOCHER, BLEY, SPRINGER und KOCHER-BECKER, 1982).

II. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG UND UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Das mir zur Verfügung gestellte Untersuchungsmaterial stammt aus folgenden Versuchen:
Reziproke Hybridenembryonen der Inzuchtstämme C 57 BL/6J Kch (hier abgekürzt "BL") und CBA/J Kch (abgekürzt "CBA") wurden während der Organogenese einmalig mit Triäthylenmelamin (TEM) behandelt (Dosis 15 bzw. 20 µg|Muttertier; bei den Kreuzungen CBAxBL und BLxCBA steht jeweils die mütterliche Stammeszugehörigkeit an erster Stelle).

Die jeweilige Anzahl der Muttertiere, der Würfe und die Gesamtzahl der behandelten Embryonen und unbehandelter Kontrolltiere sind in der folgenden Tabelle 1 nach verabreichter Dosis und Behandlungszeitpunkt zusammengefaßt.

Beim größten Teil des Untersuchungsmaterials war die TEM-Behandlung am 10. Embryonaltag erfolgt, d.h. in derjenigen Entwicklungsphase, in welcher an den Extremitäten präaxiale Polydaktylie erzeugt wird.
Ein Teil der Würfe wurde am 19. Tag der Trächtigkeit dem Muttertier entnommen, dabei wurden die Uteri auf Resorptionen untersucht. Die übrigen Würfe wurden als Neugeborene oder im Alter von 8 oder 21 Tagen abgetötet.

Die Anzahl der im Versuch angesetzten Kontrollen war relativ gering. Für die morphologische Auswertung wurden deshalb entsprechende unbehandelte Hybriden aus anderen Experimenten in das Untersuchungsmaterial mit einbezogen.

Tabelle 1: Übersicht über das Untersuchungsmaterial

Behandlungs-Tag		9	9 1/2	10		11	12	unbehandelte Kontrollen
Dosis (µg)		15	15	15	20	15	15	
BL x CBA	trächtige ♀♀	7	5	25	17	5	5	12
	Würfe[1]	4	4	24	12	4	5	12
	Feten, Neugeborene[2] und Jungtiere	22	14	121	70	16	25	65
	auswertbare Fälle	18	9	104	61	10	19	143[3]
CBA x BL	trächtige ♀♀	8	4	19	14	3	3	8
	Würfe[1]	7	4	19	14	3	3	8
	Feten, Neugeborene[2] und Jungtiere	14	19	130	85	15	19	41
	auswertbare Fälle	12	12	113	54	13	19	117[3]

1) geworfen oder vor der Geburt dem Muttertier entnommen

2) lebend oder tot entnommene Feten und Neugeborene

3) Zusätzlich zu den mit den im TEM-Versuch mitgelaufenen Kontrollen wurden hier noch andere unbehandelte Tiere entsprechender genetischer Konstitution aus Beständen des Labors zur morphologischen Auswertung herangezogen.

Sämtliche Feten bzw. Neugeborene und Jungtiere wurden entweder mit Alizarinrot (Darstellung der verknöcherten Skelettanteile) oder Methylenblau (Darstellung des knorpligen Skeletts) angefärbt und als Totalpräparate aufgehellt. Alizarinrot-Färbung wurde bei Tieren aller Entwicklungsstufen, Methylenblau-Färbung nur bei Feten und Neugeborenen angewandt.

Bezüglich der färberischen Darstellung der Skeletteile wiesen die Präparate je nach Fixationsalter und angewandter Färbemethode Un-

terschiede auf. Die Zahl der auswertbaren Fälle ist daher im Hinblick auf verschiedene skeletale Abänderungen unterschiedlich.

Die angewandten statistischen Verfahren wurden dem Lehrbuch von L. SACHS (1978) entnommen.
Der Vergleich zwischen unterschiedlichen Häufigkeiten erfolgte mit Hilfe der χ^2-Methode mit Kontingenztafeln. Zur Prüfung eines Zusammenhanges zwischen dem Auftreten verschiedener Mißbildungen wurden die Kontingenzkoeffizienten bestimmt.
Veränderungen in der Variabilität der Schwanzwirbelzahlen nach TEM-Behandlung wurden für beide Hybridenkonstitutionen mit dem Rangdispersionstest von SIEGEL und TUKEY geprüft.
Unterschiede zwischen den verschiedenen Stichproben wurden bei einem $p < 0,05$ als signifikant angesehen.

III. ERGEBNISSE

A. TEM-Behandlung am 10. Embryonaltag

1) Embryoletalität

Tabelle 2 enthält den Anteil der Resorptionen bzw. Totgeburten an der Gesamtzahl der Implantationen der jeweiligen Behandlungsgruppe. Die Behandlung mit der Dosis 15 µg TEM führte bei dem vorliegenden Untersuchungsmaterial gegenüber den unbehandelten Kontrollen nicht zu einem Anstieg der Letalität. Dosissteigerung auf 20 µg TEM führte zu einem Anstieg der Resorptionen bzw. Totgeburten bei beiden reziproken Kreuzungsgruppen, der allerdings nur bei BLxCBA - Hybriden signifikant war.

Tabelle 2: Übersicht über die Letalität der Feten in verschiedenen Kreuzungen nach unterschiedlichen TEM-Dosen

Hybriden	BL X CBA			CBA x BL		
Dosis (µg)	15	20	unbehand.	15	20	unbehand.
Muttertiere	10	17	15	7	14	6
Implantationen total	55	125	101	45	117	43
in Resorption oder tot	7 (12%)	57 (46%)	7 (7%)	6 (13%)	33 (28%)	10 (23%)

2) Mißbildungen

a) Präaxiale Polydaktylie

Die charakteristische Mißbildung nach TEM-Behandlung am 10. Embryonaltag war die präaxiale Polydaktylie. Sie manifestierte sich in unterschiedlicher Ausprägungsstärke: Bei niederer Ausprägungsstärke ist nur eine Hinterextremität polydaktyl, bei höherer dage-

gen sind beide Hinterextremitäten betroffen.
Außerdem zeigt sich die unterschiedliche Ausprägungsstärke in der Anzahl der Zusatzelemente.
Bei niedrigster Ausprägungsstärke war lediglich der erste Strahl der Hinterextremitäten mit seinen Skeletteilen verbreitert. Davon konnten alle Phalangenglieder, Metatarsale, Tarsale und Tibiale betroffen sein (Stufe A).
Bei höherer Ausprägungsstärke kam es zu Spaltungen des ersten Strahles, die sich verschieden weit proximalwärts ausdehnten. Sie waren auf die Phalangen beschränkt oder dehnten sich bis ins Basipodium aus, d.h. Tarsale und Tibiale konnten noch an der Strahlenverdoppelung teilnehmen bzw. waren verbreitert (Stufe B).
Bei noch höherer Ausprägungsstärke waren dem Zusatzstrahl Elemente eines weiteren präaxialen Strahles vorgelagert. Der reguläre erste Strahl war hierbei triphalang. Zusätzlich konnte eine Spaltung der Endphalangen des zweiten Strahles auftreten. Die Verlängerung des regulären ersten Strahles ohne Auftreten von Zusatzstrahlen wurde hier ebenfalls als Ausdruck hoher Ausprägungsstärke gewertet (Stufe C).

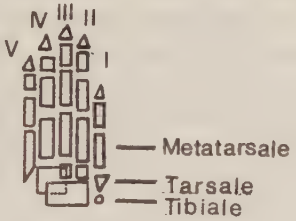
Die Zuordnung eines triphalangen 1. Strahles zur Ausprägungsstufe C geschah aus folgenden Gründen:

Im vorliegenden Material konnte der erste Strahl triphalang sein, wenn auch sonst Kriterien für eine hohe Ausprägungsstärke vorlagen (Anzahl und Verlängerung der Zusatzstrahlen, beidseitige Polydaktylie), er war jedoch auch hier noch häufig diphalang. Dagegen blieb der reguläre erste Strahl stets diphalang, wenn die übrigen Kriterien für eine niedrige Ausprägung sprachen (lediglich Verbreiterung des ersten Strahles, Zusatzstrahlen nur diphalang, einseitige Polydaktylie). Es bedurfte offenbar stärkerer Einflüsse, um eine Verlängerung des ersten Strahles zu erreichen. Aus diesem Grund wurde die Verlängerung des ersten Strahles ohne Auftreten von Zusatzstrahlen als hohe Ausprägungsstärke gewertet und in Stufe C eingeordnet.

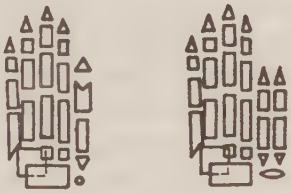
Nach den oben beschriebenen und in Abb. 1 dargestellten Kriterien wurden die polydaktylen Extremitäten den verschiedenen Ausprägungsstufen zugeordnet.

Abb. 1: Ausprägungsstufen der präaxialen Polydaktylie, dargestellt an Hand von Beispielen aus dem vorliegenden Untersuchungsmaterial

normale Hinterextremität (links)

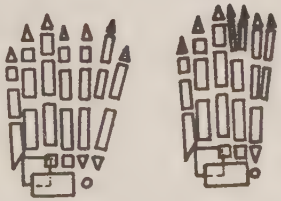


Stufe A: Diphalanger erster Strahl verbreitert oder mehr oder weniger weit proximalwärts gespalten



Stufe B: Regulärer erster Strahl diphalang, präaxialer Zusatzstrahl triphalang. Der Zusatzstrahl kann auf verschiedenen Höhen aus dem regulären ersten Strahl entspringen.

Stufe C: Regulärer erster Strahl triphalang oder/und mehr als ein Zusatzstrahl vorhanden. Der erste Strahl kann auch diphalang bleiben. Zusätzlich kann der zweite Strahl gespalten sein.



Weil die präaxiale Polydaktylie, wie bereits erwähnt, die charakteristische Mißbildung nach TEM-Behandlung am 10. Embryonaltag ist, wird sie hier als "Leitmißbildung" in der gesamtheitlichen Analyse der skeletalen Veränderungen verwandt. (Nach Behandlung an den angrenzenden Tagen trat sie überhaupt nicht oder nur relativ selten auf.) Sie wurde nach Behandlung sowohl mit niederer Dosis als auch mit höherer Dosis stets nur an den Hinterextremitäten als präaxiale Polydaktylie mit maximal zwei Zusatzstrahlen realisiert. Während nach Behandlung mit 15 µg TEM nur eine Spaltung bzw. Verdoppelung oder/und Verlängerung des ersten Strahles erzeugt wurde, war nach Behandlung mit 20 µg TEM noch zusätzlich eine Spaltung des zweiten Strahles möglich. Alle vom ersten Strahl ausgehenden Zusatzstrahlen konnten triphalang und damit, verglichen mit einem normalen diphalangen ersten Strahl, verlängert sein. Der verdoppelte zweite Strahl war in beiden aufgetretenen Fällen triphalang. Während beim ersten Strahl alle Elemente verdoppelt sein konnten, waren beim zweiten Strahl stets Phalanx 2 und 3 verdoppelt.
Die Verlängerung des regulären ersten Strahles um ein Glied ohne Auftreten von Zusatzstrahlen war ebenfalls möglich. Er blieb jedoch häufig diphalang, auch wenn bereits zwei triphalange Zusatzstrahlen für eine relativ hohe Ausprägungsstärke sprachen.
An den Vorderextremitäten eines einzigen mit 20 µg TEM behandelten Tieres der Kreuzung BLxCBA waren bei normal ausgebildeter Hand Ulna und Radius verkürzt und proximal verwachsen.

Bei der Ausbildung der Polydaktylie ließ sich keine Bevorzugung einer Körperseite, ebenso kein Einfluß des Geschlechtes nachweisen. Bei Tieren mit beidseitiger Polydaktylie der Hinterextremitäten lag meist eine höhere Ausprägungsstufe vor als bei nur einseitig betroffenen Tieren. Innerhalb eines Wurfes war die Ausprägungsstärke relativ konstant.

Tabelle 3 zeigt Häufigkeit und unterschiedliche Ausprägungsgrade der Polydaktylie an Feten und Neugeborenen aus den verschiedenen Experimentalgruppen.

Tabelle 3: Häufigkeit der präaxialen Polydaktylie unterschiedlicher Ausprägungsstärke nach Behandlung am 10. Embryonaltag

Hybridenkonstitution	BL x CBA		CBA x BL	
Dosis (µg)	15	20	15	20
Hybriden-Individuen insgesamt	104	61	113	54
polydaktyle Individuen insgesamt	47 (45,2%)	36 (59%)	25 (22,1%)	16 (29,6%)
beidseits polydaktyle Individuen	30 (28,6%)	31 (50,8%)	2 (1,8%)	9 (16,7%)
einseitig polydaktyle Individuen	17 (16,4%)	5 (8,2%)	23 (20,4%)	7 (13,0%)
polydaktyle Extremitäten insgesamt	77	67	27	25
Ausprägungsstufe A	10 (13,0%)	13 (19,4%)	20 (74,0%)	7 (28,9%)
B	61 (79,2%)	22 (32,8%)	7 (25,9%)	5 (20,0%)
C	6 (7,8%)	32 (41,6%)	-	13 (52,0%)

Bei den Kontrolltieren traten an den Extremitäten keine Veränderungen auf.

In bezug auf die Häufigkeit dieser Mißbildung ergibt die statistische Analyse der Daten folgendes: Im Bereich der angewandten Dosen läßt sich innerhalb der jeweiligen Hybridenkonstitution kein signifikanter Anstieg der Polydaktylie feststellen. Bei beiden angewandten Dosen ist aber die Anzahl der polydaktylen Nachkommen aus BL-Müttern größer als die Anzahl der polydaktylen Nachkommen aus CBA-Müttern ($p < 0,05$).

In bezug auf die Ausprägungsstärke der Polydaktylie ergibt sich: In beiden Hybridenkonstitutionen tritt bei Anwendung der höheren TEM-Dosis zweiseitige Polydaktylie häufiger auf als nach Behandlung mit der niedrigen TEM-Dosis ($p < 0,05$). Bei Anwendung der gleichen Dosis sind die Nachkommen aus BL-Müttern häufiger beidseitig polydaktyl als die Nachkommen aus CBA-Müttern ($p < 0,05$).

Die höchsten Ausprägungsstufen (C) treten bei beiden Kreuzungen nach Behandlung mit der höheren TEM-Dosis häufiger auf als nach Behandlung mit der niedrigen ($p < 0,05$).
Eine Begünstigung in der Realisation der höheren Ausprägungsstufen (B und C) durch das BL-Genom ließ sich nur nach Anwendung der niederen TEM-Dosis erkennen ($p < 0,05$).

b) Mißbildungen an Wirbelsäule und Rippen

Neben der praeaxialen Polydaktylie waren Wirbelsäulen- und Rippenveränderungen die einzigen Mißbildungen, die nach Behandlung am 10. Embryonaltag in größerer Anzahl erzeugt wurden. Sie wurden in allen Abschnitten der Wirbelsäule gefunden. Tabelle 4 gibt eine Übersicht über die Anzahl der Anomalien im Hals- und Rumpfbereich.

Tabelle 4: Wirbelanomalien im Hals- und Rumpfbereich (C_1 bis S_4) nach TEM-Behandlung am 10. Embryonaltag

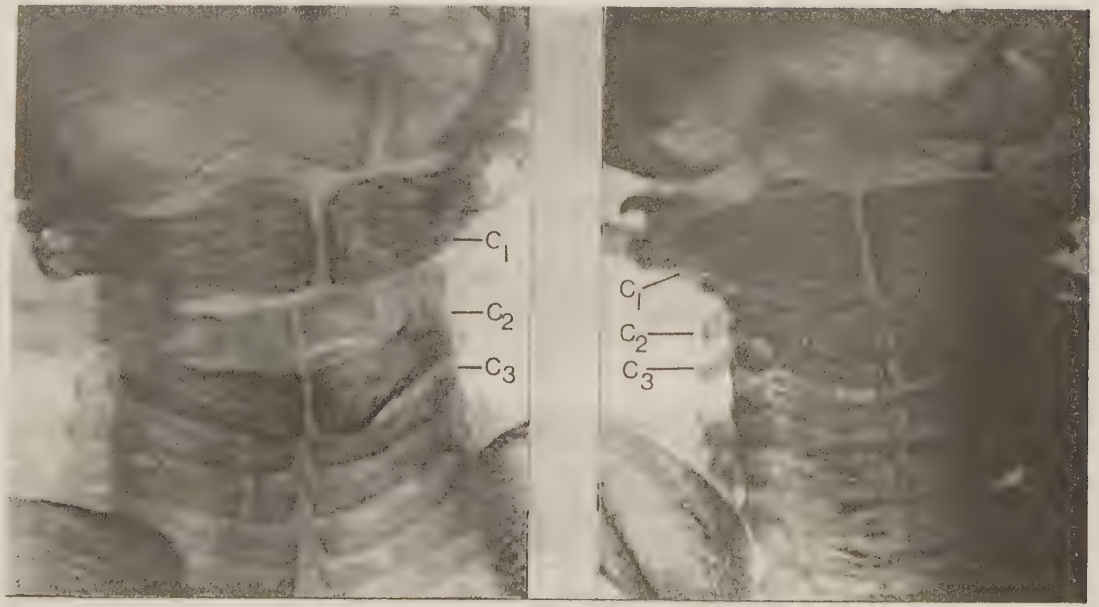
Hybriden	BL x CBA		CBA x BL	
Dosis (µg)	15	20	15	20
Individuen insgesamt mit Anomalien von C_1-S_4	$^3/_{104}$	$^{30}/_{61}$	$^0/_{113}$	$^7/_{54}$
Individuen mit Anomalien am Arcus	$^3/_{62}$ (4,8%)	$^{21}/_{45}$ (46,7%)	$^0/_{61}$ (0%)	$^4/_4$ (100%)
Individuen mit Anomalien am Corpus	$^0/_{104}$ (0%)	$^9/_{61}$ (14,8%)	$^0/_{113}$ (0%)	$^3/_{54}$ (5,6%)

Die Anzahl der Individuen mit Anomalien steht im Zähler, die Anzahl der jeweils auswertbaren Fälle im Nenner.

Im Bereich der Cervical- und Sacralwirbelsäule nehmen die Wirbelanomalien in cranio-caudaler Richtung ab, d.h. am häufigsten ist die Cervical- und die obere Thorakalwirbelsäule betroffen, in geringerem Umfang die Lumbal- und Sacralwirbelsäule. Eine Ausnahme in diesem cranio-caudalen Gefälle machte die Schwanzwirbelsäule (S. 19 ff): sie war häufiger mißbildet als alle übrigen Abschnitte.
Eine statistische Analyse der Daten aus Tabelle 4 wurde wegen der teilweise sehr geringen Zahl der Besetzungen der Felder in der Kontingenztafel nicht durchgeführt. Es zeigt sich aber deutlich die Tendenz, daß die Mißbildungshäufigkeit insgesamt, von den cranialen Bezirken der Wirbelsäule bis einschließlich ihres Sacralbereiches, durch Behandlung mit der höheren TEM-Dosis sowie durch ein mütterliches BL-Genom gesteigert wird.
Die Mißbildungen traten sowohl an den Wirbelbögen als auch an den Wirbelkörpern auf.
Mißbildungen der Wirbelbögen bestanden im Ausfall von Wirbelbogen-Teilen oder/und in Verschmelzungen mit benachbarten Bögen. Sie waren im Bereich von C_1 bis Th_2 lokalisiert. Weiter nach caudal gelegene Wirbelbögen wurden nach Behandlung am 10. Embryonaltag nicht verändert. Die zu den mißbildeten Wirbelbögen gehörigen Corpora waren immer normal: nie waren Bogen und Körper desselben Wirbels gleichzeitig verändert. Die Verschmelzungen erstreckten sich maximal über vier Wirbelbögen und waren oft asymmetrisch ausgebildet. Am häufigsten verwuchsen die Bögen von Atlas und Axis, sowie die Bögen von Axis und dem 3. Cervicalwirbel (Abb. 2), wobei zusätzliche weitere cervicale und die oberen beiden thorakalen Wirbelbögen mit den jeweils benachbarten Wirbelbögen verschmolzen sein konnten.

Abb. 2 : Dorsal-Ansicht der Cervical-Wirbelsäule (BL x CBA)

(8-tägig, Alizarinrot-Färbung)



links: unbehandelte Kontrolle

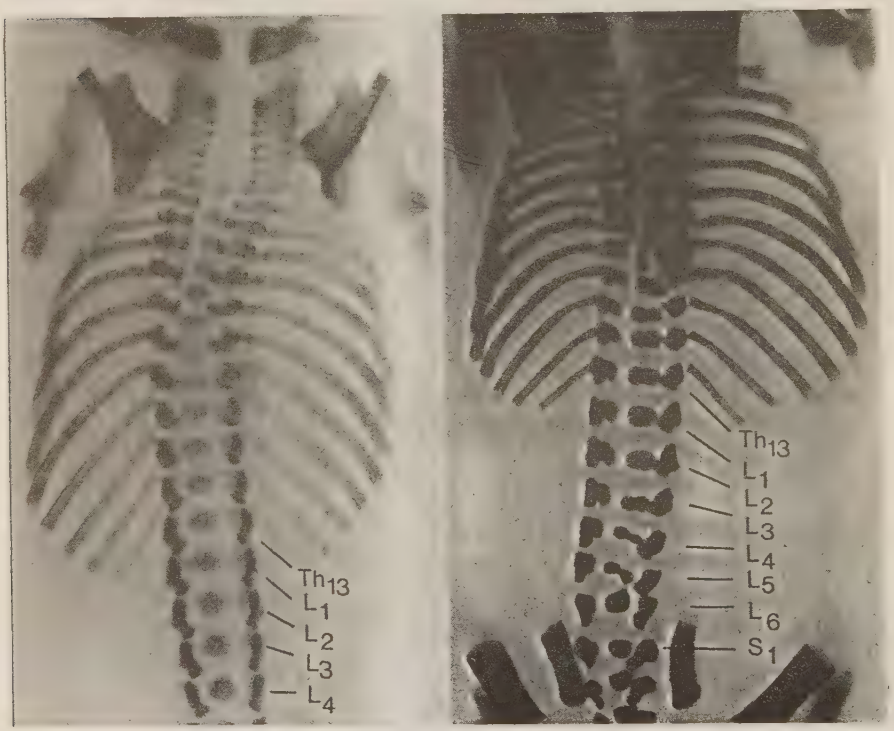
rechts: behandelt am 10. Embryonaltag mit 15 µg TEM. Die Bögen des 2. und 3. Cervikalwirbels sind beidseits miteinander verwachsen.

Bei BLxCBA - Hybriden wurden bereits durch niedrige Behandlungsdosis Wirbelbogen-Verschmelzungen von Atlas und Axis und dem dritten Cervicalwirbel erzeugt (bei 3 von 104 BLxCBA - Feten bzw. Neugeborenen). Bei einem Drittel (21 von 60) der mit der höheren Dosis behandelten Tiere waren die Wirbelbögen verwachsen, und es fehlten Teile von ihnen: immer waren Atlas und Axis und der dritte Cervicalwirbel (wie nach niedriger Dosis) und meist noch weitere Bögen der Cervical- und der oberen beiden Thorakalwirbel verändert; die Verschmelzungen erstreckten sich maximal über jeweils drei Wirbel.
Bei CBAxBL - Hybriden traten nach Behandlung mit niederer Dosis bei den 113 behandelten Tieren keine Defekte der Wirbelbögen auf. In der mit höherer Dosis behandelten Gruppe waren nur vier Präparate mit Alizarinrot-Färbung vorhanden. Sämtliche 4 Tiere wiesen mißbildete Wirbelbögen auf. Die Veränderungen waren genauso ausgeprägt wie die der mit gleicher TEM-Dosis behandelten BLxCBA - Hybriden (Tabelle 4).

Mißbildungen an den Wirbelkörpern

Ein sagittaler Spalt in der Mitte der Wirbelkörper oder/und Verwachsungen zweier Wirbelkörper traten zwischen Th_6 und S_2 (d.h. unterhalb der Lokalisation der Wirbelbogen-Veränderungen) auf (Abb. 3). Bei beiden Hybridengruppen wurden die Corpora erst durch die Behandlung mit höherer Dosis betroffen (Tabelle 4).

Abb. 3: Dorsal-Ansicht der thorako-lumbalen Wirbelsäule bei BLxCBA-Hybriden (neugeboren, Alzarinrot-Färbung)



links: unbehandelte Kontrolle

rechts: behandelt am 10. Embryonaltag mit 20 µg TEM

- Der Körper von Th_9 ist verschoben, länglich deformiert und besitzt eine zusätzliche Verknöcherungszone.
- Th_{10} bis Th_{13} und L_3 bis L_5 sind sagittal eingeschnürt. Th_{11} zeigt einen durchgehenden Spalt des Corpus.
- Zwischen L_5 und L_6 ist eine dünne Knochenbrücke ausgebildet.

In der Schwanzwirbelsäule wurden wie in den übrigen Bereichen Deformationen und Verwachsungen von Wirbeln gefunden. Daneben traten Schwanzverkürzungen auf (Tabelle 5).

Tabelle 5: Schwanzanomalien nach TEM-Behandlung am 10. Embryonaltag

Hybriden	BL x CBA		CBA x BL	
Dosis (µg)	15	20	15	20
Anzahl der Individuen insgesamt	104	61	113	54
davon Individuen mit Schwanzanomalien	82 (79%)	38 (62%)	40 (35%)	46 (80%)
Individuen mit lokalisierbaren Veränderungen des Schwanzes [1]				
proximal	18	2	1	8
Mitte	34	14	8	23
terminal	73	18	33	25
Individuen mit allgemeiner Reduktion der Schwanzlänge	22 (21%)	28 (46%)	-	28 (52%)

1) Es waren mehrere Tiere an mehreren Stellen des Schwanzes von Veränderungen betroffen; z.B. traten Veränderungen der proximalen und der terminalen Schwanzwirbel an demselben Tier auf.

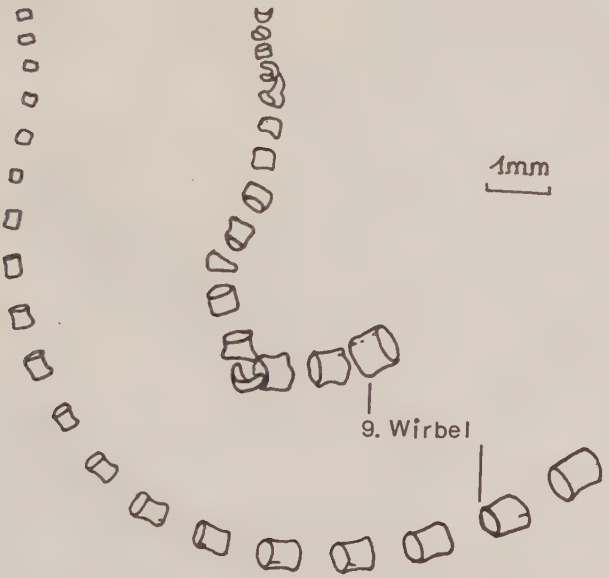
In bezug auf die Häufigkeit der Schwanzmißbildungen ergab die statistische Analyse folgendes:
Die Zahl der Tiere mit mißbildeten Schwänzen ist bei den BLxCBA - Hybriden nach Behandlung mit der geringeren TEM-Dosis größer als nach Behandlung mit der höheren Dosis ($p < 0,05$); die Schwanzlänge ist dagegen nach Behandlung mit der höheren Dosis häufiger und stärker reduziert als nach Behandlung mit der niedrigen ($p < 0,05$).

Bei den CBAxBL - Hybriden treten nach Behandlung mit der höheren TEM-Dosis mehr Schwanzmißbildungen auf als nach Behandlung mit

der niedrigen Dosis ($p < 0,05$). Schwanzverkürzungen wurden nur nach Behandlung mit der höheren TEM-Dosis gefunden.

Der mißbildungsfördernde Einfluß des mütterlichen BL-Genoms machte sich nur nach Anwendung der niedrigen TEM-Dosis bemerkbar. Nach Anwendung der höheren Dosis lassen sich zwischen den beiden reziproken Kreuzungen keine signifikanten Unterschiede erkennen.
Hinsichtlich der Art der Deformationen ergaben sich bei beiden Hybridengruppen Unterschiede: für BLxCBA - Hybriden war die Zersprengung eines Wirbels in "Trümmer" charakteristisch. Hierbei waren mehrere kleine Knochenstücke ungeordnet in die Muskulatur eingelagert, ohne daß sich noch eine Wirbelkörperform ahnen ließ. Ebenso traten nur bei BLxCBA - Hybriden teilweise ausgebildete spangenartige Wirbel auf (Abb. 4). Daneben kamen auch andere Wirbelkörperdeformationen vor, die jedoch in gleicher Art auch bei CBAxBL - Hybriden gefunden wurden: es war ein kompakter Wirbelkörper vorhanden, der seine typische kantige Form verloren hatte, insgesamt kleiner als normal war oder zu einem Keil zusammengesintert war.
Bei CBAxBL - Hybriden traten keine speziellen Wirbelveränderungen auf, die auf diese Hybridengruppe beschränkt waren.

Abb. 4: Schwanzskelette von BLxCBA - Hybriden
(8-tägig, Alizarinrot-Färbung)



unten: unbehandeltes Kontrolltier

oben: behandelt am 10. Embryonaltag mit 15 µg TEM. Deformierter Schwanz, der eine Verkürzung mittleren Grades aufweist mit für BLxCBA typischen, teilweise ausgebildeten "spangenartigen" Wirbeln in der Mitte und terminal. Der behandelte Keim ist auch insgesamt in seiner Größe reduziert, wobei die Reduktion der Schwanzlänge relativ stärker ist als die der Rumpflänge.

Im proximalen Schwanzabschnitt, wo sich die geringste Anzahl mißbildeter Wirbel befand, traten auch die geringfügigsten Veränderungen auf: vollkommen intakte oder nur von ihrer ursprünglichen Form leicht abgewandelte Corpora verwuchsen miteinander, zum Teil ohne

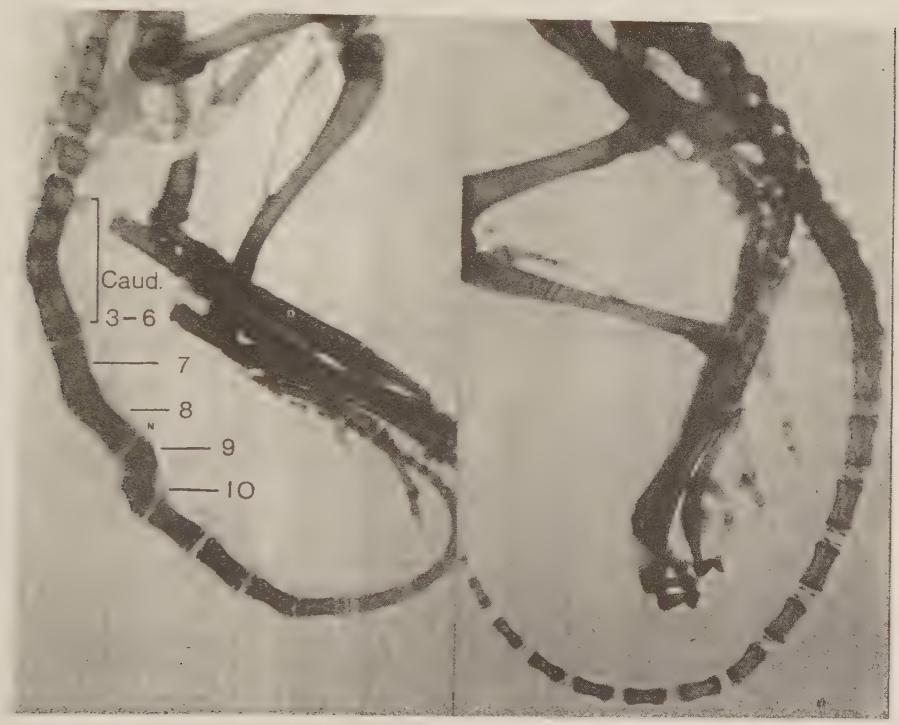
daß Unregelmäßigkeiten an der äußeren Schwanzkontur sichtbar waren (Abb. 5).

Bei terminalen Defekten war häufig die normale Wirbelform fast völlig verlorengegangen. Im Extremfall lagen, wie bereits erwähnt, bei BLxCBA - Hybriden nur noch gänzlich ungeordnete Knochentrümmer in der Muskulatur.

Die Verkürzungen des Schwanzes waren durch drei Faktoren bedingt: eine geringere Wirbelzahl, in sich verkürzte Wirbel und dichter aufeinander liegende Wirbel. Ein verkürzter Schwanz mußte nicht zwangsläufig Deformationen aufweisen. Oft lag eine Reduktion der Wirbelzahl der Verkürzung zugrunde, wobei nicht zu entscheiden war, ob mehr terminale oder mehr Schwanzwurzel-nahe Wirbel fehlten.

Auszählungen der Schwanzwirbel waren nur an den mit 15 µg TEM behandelten reziproken Hybriden möglich, da nur diese als 21 Tage alte Alizarinrot-gefärbte Präparate vorlagen (in diesem Alter sind die Wirbelkörper bereits über die gesamte Länge des Schwanzes verknöchert). Bei den Tieren früherer Entwicklungsstufen, bei denen die Ossifikation der Schwanzwirbel noch nicht abgeschlossen ist, wurden die Längenverhältnisse im Vergleich zur Gesamtkörperlänge geschätzt.

Abb. 5: Schwanzskelett von BLxCBA - Hybriden
(21-tägig, Alizarinrot-Färbung)



rechts: unbehandelte Kontrolle

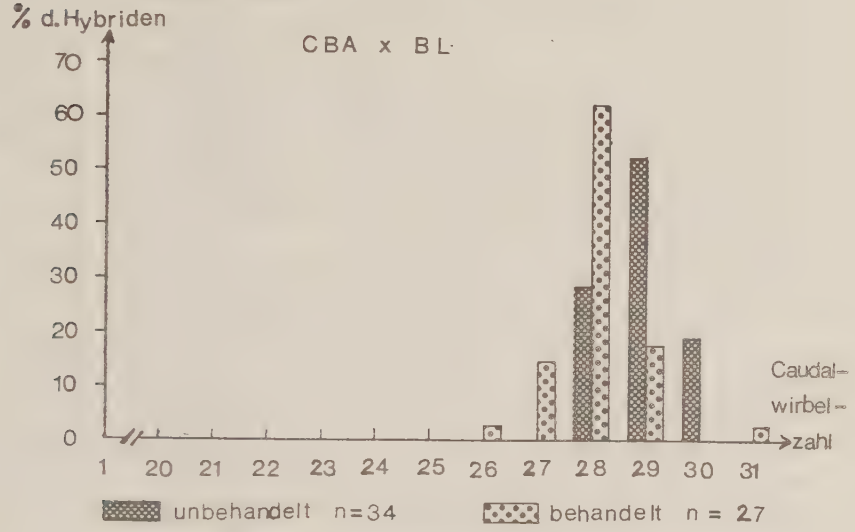
links: behandelt am 10. Embryonaltag mit 15 µg TEM
Im proximalen Schwanzabschnitt die für diese Lokalisation typische Verwachsung sonst intakter Wirbel:

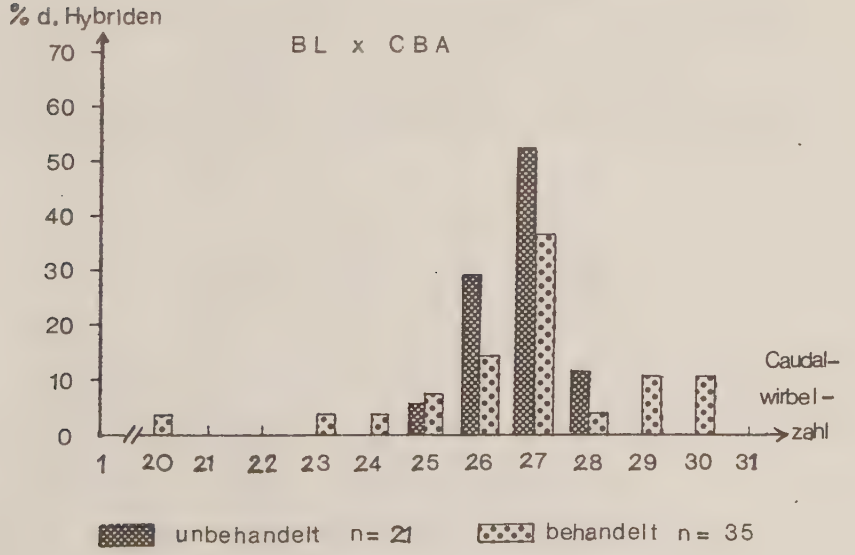
- Caudalwirbel 3 bis 6 fest verwachsen (die dunkler gefärbten Epiphysen zeigen die Wirbelgrenzen an).
- Caudalwirbel 7 und 8 zeigen einen geringeren Abstand voneinander als üblich, teilweise sind auch die Epiphysen verschmolzen.
- Caudalwirbel 9 und 10: die Diaphysen sind auf ein Dreieck verkleinert, um welches sich die Epiphysenfuge und darüber die Epiphysen V-förmig anlegen.

Tabelle 6: Variation der Schwanzwirbelzahl bei unbehandelten und mit 15 µg TEM am 10. Embryonaltag behandelten Hybriden (im Alter von 21 Tagen - Alizarinrot-Färbung)

Wirbelzahl	BL x CBA		CBA x BL	
	unbeh.	behand.	unbeh.	behand.
19	-	-	-	-
20	-	1	-	-
21	-	-	-	-
22	-	-	-	-
23	-	1	-	-
24	-	1	-	-
25	2	2	-	-
26	10	4	-	1
27	18	10	-	5
28	4	1	6	22
29	-	3	11	6
30	-	3	4	-
31	-	-	-	1
Anzahl untersuchter Tiere	34	26	21	35

Abb. 6 :Variation der Schwanzwirbelzahl bei Kontrollen und mit 15 µg TEM am 10. Embryonaltag behandelten Hybriden





Die Schwanzwirbelzahlen am Tag 21 von Kontroll- und Experimentaltieren, deren Mütter am Tag 10 mit 15 µg TEM behandelt worden waren, ist für beide reziproke Kreuzungen in der Tabelle 6 und in dem Histogramm der Abb. 6 dargestellt. Die Schwanzwirbelzahl liegt für die BLxCBA - Hybriden zwischen 25 und 28, für die CBAxBL - Hybriden zwischen 28 und 30. Sie variiert nach TEM-Behandlung in beiden reziproken Kreuzungen stärker als bei den jeweiligen unbehandelten Kontrollen. (Der Rangdispersionstest ergibt jeweils ein $p < 0.05$).
Die größte Variabilität tritt bei den Nachkommen aus BLxCBA - Kreuzungen nach TEM-Behandlung auf.
Besonders beachtenswert ist, daß es unter der TEM-Behandlung bei der Dosis 15 µg nicht nur zu einer Verminderung der Zahl der Wirbel, sondern bei einem Teil der Individuen auch zu einer Wirbelvermehrung gekommen ist. Auch dieser Befund ist bei Nachkommen aus BL-Müttern häufiger als bei Nachkommen aus CBA-Müttern.
Nach Behandlung mit 20 µg TEM kam es bei beiden Hybridengruppen zu erheblichen Schwanzverkürzungen. Bei BLxCBA war dies in stärkerem Maße der Fall als bei CBAxBL.

Korrelation von Polydaktylie mit Wirbeldefekten (Tab. 7)
Polydaktylie und Wirbeldefekte einschließlich der Schwanzdefekte traten im allgemeinen unabhängig voneinander auf. Nur bei der BLxCBA - Kreuzung zeigte sich nach Behandlung mit 20 µg TEM eine sehr geringe Korrelation von Polydaktylie mit Wirbelmißbildungen (CC = 0,14).

Tabelle 7: Beziehung zwischen Polydaktylie und Wirbelmißbildungen nach TEM-Behandlung am Tag 10

Hybriden	TEM-Dosis	Zahl d. Tiere	Tiere mit Polydaktylie			Tiere mit normalem Extremitätenmuster		
			ohne W.M.	mit W.M.	mit Schw.M.[1)]	ohne W.M.	mit W.M.	mit Schw.M.[1)]
BLxCBA	15 µg	104	9	38	37	12	45	45
	20 µg	61	6	30	23	7	18	15
CBAxBL	15 µg	113	17	8	8	56	32	32
	20 µg	54	3	13	12	9	29	28

W.M. = Wirbelmißbildungen

Schw.M. = Schwanzmißbildung

1) = in vorgehender Spalte enthalten

Veränderung in der Zahl der Lumbalwirbel

Während die Anzahl der Cervicalwirbel mit 7 und die Anzahl der Thorakalwirbel mit 13 stets konstant war, variierte die Lumbalwirbelzahl.

Über die Zuordnung der Wirbel zur Lumbal-, Sacral- und Schwanzregion existieren in der Literatur unterschiedliche Auffassungen (MICHIE und Mc LAREN, 1954; Grüneberg, 1963; Forsthoefel, 1958).

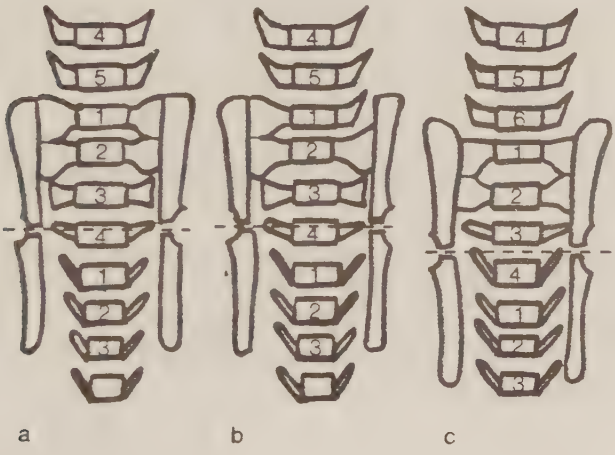
In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Zuordnung nach folgenden Kriterien:

1. Die Abgrenzung lumbal/sacral wurde in Anlehnung an MICHIE und Mc LAREN (1954) mit Hilfe der Transversalfortsätze getroffen:
   Der erste Wirbel in cranio-caudaler Richtung mit breiten flügelartigen Fortsätzen ist der erste Sacralwirbel. Asymmetrische Wirbel mit je einem Transversalfortsatz vom lumbalen und vom sacralen Typ wurden zum Sacralbereich gezählt.

2. Die Abgrenzung sacral/caudal wurde mit Hilfe der relativen Lage der Wirbel zur Hüftgelenksachse festgelegt:
   Als letzter Sacralwirbel wurde derjenige Wirbel definiert, der durch die Verbindungslinie beider Acetabuli am Corpus oder an den Processus transversarii geschnitten wurde.

In Abb. 7 sind die im vorliegenden Untersuchungsmaterial vorkommenden Variationen der lumbo-sacralen und der sacro-caudalen Grenze sowie die Variationen der Sacralwirbelformen schematisch dargestellt.

Abb. 7: Abgrenzung der Wirbelsäulen-Abschnitte im Beckenbereich (schematische Zeichnung der Beckenregion)



a: lumbal 5, sacral 4 Wirbel

b: 5 lumbale, 1 asymmetrischer Wirbel (mit je einem Fortsatz vom lumbalen und vom sacralen Typ), der mit den folgenden drei Wirbeln zum Sacralbereich zählt.

c: 6 lumbale, 4 sacrale Wirbel

Bei den Tieren mit 5 Lumbalwirbeln besaßen die ersten drei Sacralwirbel die für sie typischen breiten "flügelartigen" Fortsätze. Der asymmetrische Wirbel besaß hierbei nur einen breiten Transversalfortsatz. Die Fortsätze des 4. Sacralwirbels glichen meist denen der nachfolgenden caudalen Wirbel, inserierten am Corpus jedoch flacher als die Fortsätze der caudalen Wirbel (Abb. 7 a und b). Bei den Tieren mit 6 Lumbalwirbeln besaßen nur die ersten beiden Sacralwirbel die typischen Processus transversarii. SW_3 unterschied sich nicht mehr durch die Form der Fortsätze von den Schwanzwirbeln,

sondern nur dadurch, daß die Fortsätze am Corpus flacher inserierten als bei den Schwanzwirbeln. Der darauffolgende Wirbel mußte aufgrund seiner Lage noch zum Sacralbereich gezählt werden und war somit der 4. Sacralwirbel, obwohl er sich in seiner Form nicht von den folgenden Schwanzwirbeln unterschied.

Die Anzahl der zum Sacrum gehörigen Wirbel beträgt bei dieser Betrachtungsweise stets 4, sowohl bei den Tieren mit 5 als auch bei den Tieren mit 6 Lumbalwirbeln. Dies gilt für beide reziproke Kreuzungen sowohl nach Behandlung als auch bei den Kontrollen.

Die Variabilität der Wirbelzahl der Lumbal- und Sacralregion ließ sich im vorliegenden Untersuchungsmaterial nur an den Alizarinrotgefärbten Präparaten der eine Woche alten und älteren Tiere untersuchen, da erst hier die Transversalfortsätze verknöchert waren und deutlich dargestellt werden konnten.

Wie aus Tabelle 8 hervorgeht, besaßen die unbehandelten Kontrollen beider reziproker Kreuzungsgruppen in der Regel 5 Lumbalwirbel. Ausnahmen mit 6 Lumbalwirbeln kamen nur bei den Kontrollen der BLxCBA - Kreuzung vor. Bei beiden Hybridengruppen war der erste Sacralwirbel gelegentlich asymmetrisch ausgebildet.

Tabelle 8: Variation der lumbalen Wirbelzahl nach Behandlung mit 15 µg TEM am 10. Embryonaltag im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren (im Alter von 21 Tagen; Alizarinrot-Färbung)

Hybriden	BL x CBA		CBA x BL	
	behandelt	Kontrolle	behandelt	Kontrolle
gesamt	61	21	61	25
mit 5 Lumbalwirbeln	3	15	38	21
mit 5 Lumbalwirbeln und 1 asymmetrischem ersten Sacralwirbel	3	4	13	4
mit 6 Lumbalwirbeln	55	2	10	-

Nach TEM-Behandlung war bei Nachkommen aus BLxCBA - Kreuzungen das Vorhandensein von 6 Lumbalwirbeln die Regel ($p < 0,05$; die 0-Hypothese von der Konstanz der Lumbalwirbelzahl muß abgelehnt werden), nur in Ausnahmefällen waren 5 Lumbalwirbel vorhanden. Wie bei den Kontrollen war in wenigen Fällen der erste Sacralwirbel asymmetrisch ausgebildet.

Auch bei den Nachkommen aus der CBAxBL - Kreuzung war nach TEM-Behandlung bei einem Teil der Fälle im Gegensatz zu den entsprechenden Kontrollen die Zahl der Lumbalwirbel auf 6 erhöht. Auch in dieser Gruppe traten asymmetrische erste Sacralwirbel auf. Ihre Häufigkeit war gegenüber den Kontrollen nicht erhöht ($p > 0,5$).

Der Vergleich der Nachkommen aus beiden reziproken Kreuzungen nach TEM-Behandlung ergibt, daß die Kreuzung BLxCBA das Auftreten von 6 Lumbalwirbeln stärker begünstigt als die Kreuzung CBAxBL ($p < 0,05$), daß dagegen nach der Kreuzung CBAxBL mehr asymmetrische Sacralwirbel auftreten, als nach der Kreuzung BLxCBA ($p < 0,05$).

Als nächstes wurde überprüft, ob ein Zusammenhang besteht zwischen Veränderungen in der Zahl der Lumbalwirbel und dem Auftreten der Polydaktylie (Tab. 9).

Tabelle 9: Variation der Lumbalwirbelzahl bei Polydaktylen und Nicht-Polydaktylen (behandelt am 10. Embryonaltag mit 15 µg TEM)

Hybriden	BL x CBA		CBA x BL	
gesamt	61		61	
Extremitätenmuster der Hinterextremitäten	polydaktyl	nicht-polydaktyl	polydaktyl	nicht-polydaktyl
Hybriden gesamt	35	26	18	43
Hybriden mit 5 Lumbalwirbeln	2	1	13	25
Hybriden mit 5 Lumbal- und einem asymmetr. ersten Sacralwirbel	3	-	4	9
Hybriden mit 6 Lumbalwirbeln	30	25	1	9

Ein Zusammenhang zwischen der Realisation polydaktyler Extremitäten und dem Auftreten von 6 Lumbalwirbeln ließ sich aus der Tabelle nicht erkennen. Die Konfidenzkoeffizienten wurden wegen des teilweise geringen Zahlenmaterials nicht berechnet.

Rippen

Die Anzahl thorakaler Rippen betrug bei Behandelten und Nicht-Behandelten beider reziproker Kreuzungen stets 13. Zusätzlich zu den Thorakalrippen traten in allen Untersuchungsgruppen paarige oder unpaarige Cervikalrippen auf (Tabelle 10). Sie variierten von einer kleinen rudimentären Anlage bis zu einer relativ langen Rippe, die in die erste Thorakalrippe einmündet. Überwiegend traten die Cervicalrippen paarig auf. Bei einseitig angelegten Cervicalrippen bestand keine Bevorzugung einer Körperseite.

Bei den Kontrolltieren ließ sich keine Förderung im Auftreten von Cervikalrippen durch das mütterliche BL-Genom nachweisen ($p > 0{,}3$), wohl aber nach TEM-Behandlung ($p < 0{,}05$).

Ein Zusammenhang zwischen einem gehäuften Auftreten von Cervikalrippen und Polydaktylie bestand bei der BLxCBA - Kreuzung nicht (CC = 0,04), bei der CBAxBL - Kreuzung in sehr geringem Maße CC = 0,17).

Tabelle 10: Beziehung zwischen Polydaktylie und Cervicalrippen bei Kontrollen und nach Behandlung mit 15 µg TEM am Tag 10

Kreuzung	TEM-Dosis	Zahl d. Tiere	Tiere mit Polydaktylie		Tiere mit normalem Extremitätenmuster	
			ohne Cervicalrippen	mit Cervicalrippen	ohne Cervicalrippen	mit Cervicalrippen
BL×CBA	-	14	-	-	5	9
	15 µg	51	6	20	5	20
CBA×BL	-	24	-	-	12	12
	15 µg	64	5	14	20	25

c) Sonstige Mißbildungen nach Behandlung am 10. Embryonaltag

Außer den schon beschriebenen Anomalien traten bei den TEM-behandelten Tieren noch weitere Anomalien auf, die jedoch selten waren. Sie sind in Tabelle 11 zusammengestellt.

Tabelle 11: Sonstige Anomalien nach Behandlung am 10. Embryonaltag

Hybriden	BL x CBA		CBA x BL	
Dosis (µg)	15	20	15	20
Tiere gesamt	104	61	113	54
mißgebildete Oberkiefer	1	-	2	-
mißgebildete Unterkiefer	1	4	-	-
mißgebildete Augen	2	-	1	-
Exencephalie	-	-	-	1
mißgebildete Extremitäten außer Polydaktylie	3	1	-	-

Die Kontrollen zeigten mit Ausnahme der Dislokation der Sternebrae keine Veränderungen.

Mißbildungen des Kopfes bestanden in einer geringfügigen Reduktion des Ober- und Unterkiefers und in An- bzw. Microphthalmie. Exencephalie trat einmal in der Gruppe der behandelten CBAxBL - Hybriden auf.
Bei den Kontrollen kamen keine Veränderungen des Schädels vor.

Sternum-Variationen traten nur bei BLxCBA - Hybriden auf und zwar an einem behandelten Tier und bei mehreren Kontrolltieren. Es handelte sich hierbei um eine alternative Dislokation der Sternebrae, die von THEILER (1972) zu den im Rahmen des Normalen auftretenden Variabilitäten gerechnet werden. Die inserierenden Rippen waren entsprechend den dislozierten Sternebrae verschoben. Die Anzahl der Sternebrae betrug bei allen Tieren stets vier. Manubrium und Xiphoid

waren nicht betroffen oder waren höchstens im Rahmen einer allgemeinen Retardation verkleinert. Bei CBAxBL - Hybriden kam eine Veränderung des Sternums nicht vor.

Andere Extremitäten - Mißbildungen als Polydaktylie traten nur bei den Tieren der BLxCBA - Gruppe, nie jedoch in der CBAxBL - Gruppe auf: Bei einem nicht-polydaktylen Tier war es nach Behandlung mit der niedrigeren Dosis einseitig zur Verwachsung des hinteren Sprunggelenkes und bei zwei Tieren zu einer Verformung des Intermediums an den polydaktylen Hinterextremitäten gekommen.
Nach Behandlung mit der höheren Dosis waren an einem BLxCBA -Tier Ulna und Radius verkürzt und an ihrem proximalen Ende verwachsen. Die Handskelette waren hierbei normal.
In der Kontrollgruppe traten keine Mißbildungen der Extremitäten auf.

Über die in diesem Kapitel beschriebenen sonstigen Mißbildungen, die nach TEM-Behandlung in beiden Hybridengruppen auftraten, läßt sich zusammenfassend sagen: Oberkieferreduktionen, Micro- bzw. Anophthalmie traten in beiden Hybridengruppen auf; Unterkiefer-, Sternum- und sonstige Extremitätenmißbildungen waren auf die BLxCBA - Kreuzungsgruppe beschränkt.

B. TEM-Behandlung an frühen und an späteren Embryonaltagen

1) Letalität und Mißbildungen nach TEM-Behandlung am 9. und 9 1/2. Embryonaltag

Die Anzahl der auf diesen Entwicklungsstufen behandelten Keime (Tab. 1) war relativ gering, so daß hier nur Tendenzen aufgezeigt werden können.

Letalität

Die Letalität nahm bei beiden reziproken Kreuzungsgruppen gegenüber den unbehandelten Kontrollen nach TEM-Behandlung deutlich zu. Nach Behandlung mit 15 µg TEM am 9. Embryonaltag wurden bei BLxCBA ein Drittel, nach Behandlung am 9 1/2. Embryonaltag fast die Hälfte der implantierten Keime entweder resorbiert oder tot geboren. In der unbehandelten Kontrollgruppe wurden lediglich ein Zehntel der Keime resorbiert oder tot geboren.
Bei CBAxBL betrug die Zahl der Totgeburten bzw. Resorptionen nach Behandlung am 9. Embryonaltag vier Fünftel, nach Behandlung am 9 1/2. Embryonaltag ca. die Hälfte und bei den unbehandelten Kontrollen ein Viertel der implantierten Keime.

Art der Mißbildungen

Durch Behandlung an frühen Embryonaltagen (Tag 9 und 9 1/2) wurden bei beiden reziproken Kreuzungsgruppen Mißbildungen an Wirbelsäule, Schädel und Sternum erzeugt. Alle diese Veränderungen waren auch nach Behandlung zehntägiger Keime, jedoch in schwächerer Ausprägung erzeugt worden.
An der Cervical- und Thorakalwirbelsäule waren Wirbelkörper und Wirbelbögen, in der Lumbal- und Sacralwirbelsäule nur die Wirbelkörper mißbildet. Die Wirbelbögen waren in der Cervical- und Thorakalwirbelsäule teils in ähnlicher, teils in stärkerer Weise mißbildet als nach Behandlung am 10. Embryonaltag, d.h. Teile von ihnen fehlten oder es kam zu Verschmelzungen. Diese erstreckten sich jedoch über weitere Abschnitte und bildeten durchgehende Platten, bei

denen im Extremfall ca. 10 Wirbel miteinander in starrer Verbindung standen. Zudem wurden bei einigen Tieren Teile des Exoccipitale in die Verschmelzung miteinbezogen.
Gegenüber dem Behandlungstag 10 hat eine Lokalisationsverschiebung stattgefunden: Die Wirbelveränderungen nach TEM-Injektion am 9. und 9 1/2. Tag erstreckten sich von Atlas und Axis bis zur Mitte des Thorax und reichten damit weiter caudal als diejenigen, die durch Behandlung am 10. Embryonaltag entstanden. Dort waren, wie vorher beschrieben, außer der Halswirbelsäule nur die ersten beiden Thorakalwirbel betroffen.
An verwachsene Wirbelbögen angrenzende Rippen waren gelegentlich teilweise oder ganz miteinander verschmolzen (maximal 3). Außerdem lag in einem Fall eine teilweise Rippenaplasie vor. Weiterhin waren die Thorakalwirbelkörper häufig miteinander verschmolzen oder zeigten einen sagittalen Spalt, wie er auch nach Behandlung am 10. Embryonaltag auftrat. Dort war allerdings (s. voriges Kapitel) die Lokalisation auf lumbal und sacral begrenzt.
Die Schwanzwirbel waren nur nach Behandlung am 9 1/2. Embryonaltag betroffen. Sieben, alle aus einem Wurf stammenden BLxCBA - Keime, die am 9 1/2. Tag mit 15 µg TEM behandelt worden waren, zeigten Verwachsungen der Caudalwirbel im ersten Drittel des Schwanzes, wie sie auch nach Behandlung am 10. Embryonaltag auftraten.

Anomalien des Kopfes

Die Entwicklung des knöchernen Schädels war bei beiden reziproken Kreuzungsgruppen insgesamt schwer gestört. Bei einigen Tieren fehlte das Os nasale oder/und der Oberkiefer war verkürzt. Außerdem traten Micro- bzw. Anophthalmie auf, die mit den Mißbildungen des knöchernen Schädels gekoppelt waren.
Ein BLxCBA - Tier wies Exencephalie auf.

Sternum-Variationen

Eine alternative Dislokation der Sternebrae, wie sie auch bei den unbehandelten BLxCBA - Hybriden auftrat, zeigten ein Drittel der am 9. Embryonaltag behandelten Keime. Die CBA x BL-Gruppe besaß auch nach Behandlung am 9. und 9 1/2. Embryonaltag keine derartigen

Sternumvariationen.

Extremitäten-Mißbildungen

Der einzige Fall von praeaxialer Polydaktylie entstand nach Behandlung mit 15 µg TEM am 9 1/2. Embryonaltag bei einem sonst normalen BLxCBA - Tier; betroffen war eine Hinterextremität.
Innerhalb des gesamten Untersuchungsmaterials trat einmal Oligodaktylie an beiden Vorderextremitäten eines am 9. Embryonaltag mit 15 µg TEM behandelten CBAxBL - Tieres auf. Es fehlten rechts der 4. und 5., links nur der 5. Strahl.

2) Mißbildungen nach TEM-Behandlung am 11. und 12. Embryonaltag

Für die Auswertung der Letalität lag hier zu wenig Material vor (Tab. 1). Bei Behandlung am 11. und 12. Embryonaltag mit 15 µg TEM wurden leichte terminale Schwanzveränderungen erzeugt, die sich nicht von den nach Behandlung am 10. Embryonaltag entstandenen terminalen Deformationen unterschieden. Beide Kreuzungsgruppen waren gleichermaßen davon betroffen. Ausschließlich bei BLxCBA - Hybriden trat zusätzlich bei der Hälfte der am 11. Tag behandelten Tiere an beiden Hinterextremitäten praeaxiale Polydaktylie mittlerer und höherer Expressivität auf: von 10 polydaktylen Extremitäten waren 6 in Ausprägungsstufe B, 4 in Ausprägungsstufe C einzuordnen.
CBAxBL - Hybriden zeigten außer den erwähnten Schwanzdeformationen keine weiteren Mißbildungen.

IV. DISKUSSION

Die praeaxiale Polydaktylie, die experimentell bei der Maus durch TEM-Behandlung erzeugt wurde, gleicht im wesentlichen der durch das rezessive Gen *polydactyly (py)* hervorgerufenen Polydaktylie. Durch chemisch-teratologische Experimente zeigte KOCHER (1972), daß es sich hierbei um eine Phänokopie im Sinne des nach LANDAUER erweiterten Phänokopiebegriffs handelt (LANDAUER, 1959).

Ursprünglich waren nur die Extremitätenmißbildungen der mit TEM behandelten Tiere und der Mutante *polydactyly* miteinander verglichen worden. BLEY (1976) hat dann hochexpressive Tiere der Mutante auf Veränderungen des übrigen Skeletts untersucht. Als Kontrollen dienten reziproke Hybriden der Inzuchtstämme C57 BL/6J Kch und CBA/J Kch. Sie fand an den Extremitäten neben der praeaxialen Polydaktylie eine Reduktion der Langelemente, an der Wirbelsäule eine Vermehrung der Lumbalwirbelzahl auf sechs gegenüber fünf bei den Kontrollen, bei einigen Tieren eine Fusion der Cervicalwirbelbögen und eine Spaltbildung der Wirbelkörper der Halswirbelsäule, am Schädel eine Längenreduktion, am Becken das Fehlen eines Ligamentums zwischen den Schambeinästen und eine Verkürzung der Clavicula. Im Gegensatz zur Mutante *py*, bei der sich die Polydaktylie in "gekreuzter Asymmetrie", d.h. hinten bevorzugt rechts, vorne bevorzugt links, manifestiert (KOCHER, 1967, 1968, 1972), wurden bei den mit TEM behandelten Tieren nur die Hinterextremitäten ohne Seitenbevorzugung betroffen (vgl. KOCHER und KOCHER-BECKER, 1980). Bei Behandlung von *py*-Heterozygoten wurde Polydaktylie ebenfalls in "gekreuzter Asymmetrie" erzeugt (HILDENBRANDT, 1976; KOCHER und KOCHER-BECKER, 1980). Im hier vorliegenden Experimentalmaterial wurden die bei der Mutante aufgetretenen Reduktionen der Langelemente oder Strahlen und die am ersten Strahl häufig aufgetretenen Anhängsel, sog. "joints" nicht beobachtet. Im vorliegenden Material trat zwar ein Tier mit Reduktion von Ulna und Radius auf, dies ist aber nicht als Zeichen der höchsten Ausprägungsstufe der Polydaktylie aufzufassen, da die betreffenden Vorderextremitäten keine Strah-

lenanomalien aufwiesen. Trat bei der Mutante eine Langelement-Reduktion auf, so waren auch stets die Strahlen der betreffenden Extremität vermehrt bzw. sekundär reduziert.

Oligodaktylie wird durch TEM-Behandlung an späten Embryonaltagen (Tag 11 und 12) erzeugt (KOCHER 1967). Die hier nur einmalig aufgetretene Oligodaktylie nach Behandlung am 9. Embryonaltag ist daher wahrscheinlich als eine zufällige Mißbildung einzustufen.

Bei den mit TEM behandelten Hybriden trat, wie bei der Mutante *py* , eine Vermehrung der Lumbalwirbelzahl auf sechs und eine dosisabhängige Fusion der Cervikalwirbelbögen auf. Damit sind bei der Mutante und bei ihrer Phänokopie durch TEM-Behandlung nicht nur die Extremitätenstrahlen, sondern auch die Wirbelsäule in gleicher Weise verändert. Es wurde also nicht nur das Haupt-Mutantenmerkmal, sondern auch der für die praeaxiale Polydaktylie typische pleiotrope Effekt durch das phänokopierende Agens hervorgebracht. Andererseits treten nach TEM-Behandlung in Kombination mit diesen Veränderungen Schwanzanomalien auf, die bei der Mutante nicht vorkommen. Die Effekte der TEM-Behandlung in den verschiedenen Regionen des Skeletts sind individuell nicht gekoppelt.

Die Tendenz zur Ausbildung einer Lumbalregion mit sechs Wirbeln und der Fusion der Bögen der oberen Cervikalwirbel ist bei BLxCBA größer als nach reziproker Kreuzung: ein mütterliches BL-Genom wirkt sich fördernd auf die Ausbildung einer Lumbalregion mit sechs Wirbeln aus, ebenso wird die Fusion der oberen Cervikalwirbelbögen durch eine BL-Mutter begünstigt; eine CBA-Mutter hemmt dagegen die Ausbildung eines 6. Lumbalwirbels und die Verwachsung der Cervikalwirbelbögen. Es besteht somit eine Parallele mit der größeren Tendenz zur Realisation der Polydaktylie bei BLxCBA, die von KOCHER (1972) beschrieben wurde: ein mütterliches BL-Genom fördert die Ausbildung der Polydaktylie, während sich bei einem mütterlichen CBA-Genom die Polydaktylie weniger häufig und weniger stark realisiert.

Ein Problem stellte in der vorliegenden Arbeit die Begrenzung der Sacral-Region dar. Für die Abgrenzung der Lumbal- zur Sacral-Region ließen sich eindeutige Kriterien festlegen: hier war die Form des Transversalfortsatzes ausschlaggebend. Die Lumbalwirbel besitzen schmale Transversalfortsätze, während sich der erste Sacralwirbel durch breite flügelartige Transversalfortsätze auszeichnet (MICHIE und Mc LAREN, 1954). Asymmetrische Wirbel mit je einem Fortsatz vom lumbalen und sacralen Typ wurden hierbei zum Sacralbereich gezählt. In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Abgrenzung lumbal/sacral ausschließlich nach der Form der Transversalfortsätze wie von Mc LAREN und MICHIE (1954) beschrieben.

Der Übergang vom Sacrum zum Schwanz ist bezüglich der Wirbelform fließend. Die Abgrenzung der sacralen Wirbel von den caudalen Wirbeln wird in der Literatur unterschiedlich gehandhabt. GRÜNEBERG setzt die Anzahl der Sacralwirbel auf vier fest, ohne dafür morphologische Kriterien zu nennen. Die ersten drei Sacralwirbel besitzen die typischen breiten flügelartigen Transversal-Fortsätze. Der vierte Sacralwirbel gleicht mit seinen schmalen Fortsätzen dem ersten Schwanzwirbel. Unter Umständen kann auch bereits der dritte Sacralwirbel schmale Transversalfortsätze wie der erste Caudalwirbel aufweisen (GRÜNEBERG, 1963). FORSTHOEFEL (1958) dagegen beurteilt die Grenze sacral-caudal ausschließlich nach der Form der Transversalfortsätze: nur diejenigen Wirbel, die breite flügelartige Transversalfortsätze besitzen, rechnet er zum Sacralbereich. Nach diesem Kriterium besitzt der sacrale Abschnitt der Wirbelsäule meist nur zwei, gelegentlich drei Wirbel.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Abgrenzung der Sacralwirbelsäule gegenüber der Schwanzwirbelsäule mit Hilfe der relativen Lage der Wirbel zur Hüftgelenksachse vorgenommen. (Für diese Art der Abgrenzung ließ sich in der Literatur kein Beispiel finden.)

Nach FORSTHOEFEL (1958) ist die Variation der lumbalen Wirbelzahl in einer Verlagerung des Beckens nach cranial bzw. caudal begründet. Sie ist nicht nur auf die *py* -Mutante beschränkt, sondern ist

auch bei anderen polydaktylen Mutanten, prae- und postaxial, eine häufige Erscheinung (M.C. GREEN, 1966 a und b; GRÜNEBERG, 1963). Das Mutanten-Gen *luxoid (lu)* bewirkt wie das Gen *py* praeaxiale Polydaktylie und die Ausbildung eines 6. Lumbalwirbels, außerdem aber noch eine Zunahme der Rippenzahl und Schwanzdeformationen (FORSTHOEFEL, 1959).
Andererseits bestehen auch bei den Inzuchtstämmen und bei einigen Mutanten, die das Schwanzskelett beeinflussen, Unterschiede in der lumbalen Wirbelzahl (M.C. GREEN, 1966 a).

Tiere des BL-Inzuchtstammes besitzen zu 97% sechs Lumbalwirbel, zu 2% asymmetrische, zum Sacralbereich zählende Wirbel und zu 1% fünf Lumbalwirbel, während bei dem CBA-Inzuchtstamm stets nur fünf Lumbalwirbel festgestellt wurden. Auch asymmetrische Wirbel traten beim CBA-Inzuchtstamm nicht auf (GRÜNEBERG, 1963).

Sowohl bei der Mutante *py* als auch bei den TEM-behandelten Keimen trat eine Spaltbildung der Wirbelkörper auf, jedoch in unterschiedlicher Lokalisation: bei der Mutante waren nur die unteren Cervicalwirbelkörper betroffen, bei den mit TEM behandelten Tieren nur die thorakalen, lumbalen und sacralen Wirbelkörper, nie jedoch die cervikalen. Bei den Kontrolltieren traten keine Wirbelveränderungen auf. GRÜNEBERG (1963) stuft diese Spaltung der Wirbelkörper als "geringfügige Abänderung" ein, die bei verschiedenen Mutanten auftritt. Er führt sie auf das Vorhandensein zweier bilateraler Ossifikationszentren zurück (anstelle des im Normalfall auftretenden axialen Zentrums), die im Laufe der weiteren Entwicklung nicht vollständig zusammenwachsen.

In Abhängigkeit von der TEM-Dosis und dem Behandlungstag waren Fusionen der Hals- und Thorakalwirbelbögen möglich. Während der normalen Entwicklung besteht nach GRÜNEBERG (1963) zwischen Atlas und Axis beim 13 Tage alten Embryo eine knorplige Verbindung, die sich bei der überwiegenden Zahl der Inzuchtstämme, auch bei CBA und BL, im Normalfall noch vor der Geburt wieder löst. Bei den Embryonen des BL-Inzuchtstammes findet die Auflösung der knorpeligen

Verbindung jedoch zu einem späteren Entwicklungszeitpunkt statt als bei den übrigen Inzuchtstämmen und bleibt bei einem geringen Prozentsatz der Embryonen ganz aus. Fusionen weiterer Cervikalwirbel außer Atlas und Axis treten bei BL mit einer Häufigkeit von ca. 12% auf, während sie beim CBA-Inzuchtstamm niemals beobachtet werden.

Die TEM-Behandlung mit der niedrigen Dosis erzeugte vor allem bei BLxCBA Schwanzknicke und gleichzeitig Schwanzverkürzungen. Auffallend war jedoch das geringe Auftreten von Schwanzknicken nach Steigerung der TEM-Behandlungsdosis. Bei Dosissteigerung kam es nicht wie erwartet zu einer Zunahme der Schwanzknicke, sondern zu einer Abnahme derselben und zu einer Zunahme der Schwanzverkürzungen. Der Ausfall von Wirbeln dürfte damit wohl gegenüber den Wirbelmißbildungen als die stärkere Reaktion auf die Behandlung aufzufassen sein.

BLEY (1976) erwähnt bei der *py* -Mutante massive Anomalien des Rippenknorpels, die jedoch nicht näher beschrieben sind, sowie eine Verdoppelung der ersten Rippe.
Im vorliegenden Untersuchungsmaterial wurden Rippenmißbildungen nach Behandlung am 9. Embryonaltag beobachtet. Veränderungen des Rippenknorpels traten nicht auf. Die bei BLEY erwähnte Verdoppelung der ersten Rippe trat auch bei den mit TEM behandelten Tieren und bei den unbehandelten Kontrollen auf. Sie wurde in der vorliegenden Arbeit als eine Form der Cervikalrippe eingestuft. Nach TEM-Behandlung traten Cervicalrippen bei den Nachkommen der BL-Mütter gehäuft auf, ein Zusammenhang mit Polydaktylie bestand hier nicht. Bei der Kreuzung CBAxBL bestand ein geringer Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Polydaktylie und Cervicalrippen.

Die bei BLxCBA - Hybriden, Kontrollen und behandelten Tieren gleichermaßen beobachtete alternative Dislokation der Sternebrae wird von THEILER (1972) als normale Variation, die durch eine asymmetrische Insertion der Rippen am Sternum hervorgerufen wird, gedeutet.

Im vorliegenden Untersuchungsmaterial wurden in Einzelfällen auch schwere Schädelmißbildungen, die eine Verkürzung des Oberkiefers nach sich zogen, gefunden. Diese wurden jedoch nur nach Behandlung am 9. und 9 1/2. Embryonaltag erzeugt und nicht nach Behandlung am 10. Embryonaltag. BLEY (1976) hat bei hochexpressiven *py* -Mäusen durch genaue Messung der Schädelproportionen eine Verkürzung des Schädels festgestellt, jedoch keine direkten Mißbildungen. In der vorliegenden Arbeit wurde auf eine genaue Messung verzichtet, so daß hier ein Vergleich nicht möglich ist. Außerdem erwähnt BLEY Verkürzungen der Langelemente der unteren Extremitäten und der Clavicula, die ebenfalls aufgrund genauer Messungen festgestellt wurden. Da in der vorliegenden Arbeit auch hier eine genaue Messung nicht durchgeführt wurde und nur die Längenverhältnisse im Vergleich zur Gesamtkörperlänge abgeschätzt wurden, kann eine Aussage hierüber nicht gemacht werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei den reziproken Hybriden der Inzuchtstämme C57 BL/6J Kch und CBA/J Kch, die am 10. Embryonaltag mit verschiedenen Dosen der alkylierenden Substanz Triäthylenmelamin (TEM) behandelt worden waren, wurden die embryonalen bzw. postnatal vorliegenden skeletalen Veränderungen vergleichend untersucht.

Neben behandlungsphasen-spezifisch entstandener präaxialer Polydaktylie, die eine Phänokopie des Mutantenmerkmals der Mausmutante - *polydactyly (py)* darstellt, traten bei beiden reziproken Kreuzungsgruppen Wirbelbogen- und Wirbelkörper-Defekte an der oberen Wirbelsäule sowie Wirbelanomalien und Längenreduktionen im Schwanzbereich auf. Außerdem trat nach TEM-Behandlung eine Erhöhung der Lumbalwirbelzahl von 5 auf 6 auf: bei den BLxCBA - Hybriden war das fast immer, bei den CBAxBL - Hybriden nur in einem geringen Ausmaß der Fall.

Häufigkeit und Ausprägungsstärke der Polydaktylie wie auch der Wirbelsäulenveränderungen waren bei den BLxCBA - Hybriden gegenüber den Hybriden der reziproken Kreuzung erhöht. Das Auftreten der Polydaktylie und der Wirbelsäulenveränderungen war individuell nicht gekoppelt.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß durch TEM-Behandlung am 10. Embryonaltag nicht nur das Hauptmerkmal der Mutante *py* , die präaxiale Polydaktylie, sondern auch ihre pleiotropen skeletalen Effekte in der Hals- und Rumpfwirbelsäule phänokopiert werden. Andererseits sind die Schwanzmißbildungen nur für die TEM-Behandlung, nicht dagegen für die Mutantengen-Wirkung charakteristisch. Zur Abgrenzung der behandlungsphasen-spezifischen Wirkungen der TEM-Behandlung am 10. Embryonaltag wurden die skeletalen Mißbildungen an einer relativ kleinen Zahl von Würfen der reziproken Hybriden untersucht, die am 9. oder 9 1/2. Tag bzw. am 11. oder 12. Embryonaltag behandelt worden waren.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

BLEY, P. (1976): Die Abänderung des extra-autopodialen Skeletts bei homozygoten, polydaktylen Mäusen höchster Expressivität. Diplomarbeit zur Diplom-Hauptprüfung für Biologen, Zoolog. Institut Universität Würzburg

FORSTHOEFEL, P.F. (1958): The skeletal effects of the luxoid gene in the mouse, including its interactions with the luxate gene. Journ. of Morph., 102 No. 1/2/3, reprint 1972, 247-287

FORSTHOEFEL, P.F. (1959): The embryological development of the skeletal effects of the luxoid gene in the mouse, including its interactions with the luxate gene. Journ. of Morph. 104, 89-139

FRASER, F.C. (1977): Interactions and multiple causes. In: Handbook of teratology, ed. by J.G. WILSON and F.C. FRASER, New York and London: Plenum Press, Vol. I

GREEN, M. (1966a): Mutant genes and linkages. Biology of the laboratory mouse, 2nd Edition, New York, McGraw Hill Inc., 87-151

GREEN, M.C. (1966b): Genes and Development. Biology of the laboratory mouse. 2nd Edition, New York, McGraw Hill Inc., 329-336

GRÜNEBERG, H. (1963): Pathology of development. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 267

HILDENBRAND, V. (1976): Penetranz und Expressivität experimentell erzeugter präaxialer Polydaktylie bei der Maus. Zulassungsarbeit zur wissenschaftlichen Prüfung für das Lehramt an den Gymnasien, Universität Würzburg

KOCHER, W. (1963): Wirkung des TEM auf Spätstadien der Hühnerentwicklung. Z. Naturforsch. 18 b, 1128-1130

KOCHER, W. (1967): Genetisch und chemisch verursachte präaxiale Polydaktylie bei der Maus. Verh. Dtsch. Zool. Ges. Göttingen 1966: Zool. Anz. (Suppl.) 30, 412-422

KOCHER, W. (1968): Experimentelle Untersuchungen zu Problemen der Form- und Musterbildung am Huhn und an der Maus. Verh. Dtsch. Zool. Ges. Heidelberg 1967: Zool. Anz. (Suppl.) 31, 513-518

KOCHER, W. (1969): Die Wirkungsmuster des Triäthylenmelamin (TEM) und ihre Behandlungsphasen-Spezifität während der Organogenese des Hühnerkeimes. I. Veränderungen der Körpergröße, der äußeren Form und der Oberflächenstrukturen. Wilhelm Ronx' Archiv 132, 161-196

KOCHER, W. (1970): Die Wirkungsmuster des Triäthylenmelamin (TEM) und ihrer Behandlungsphasen-Spezifität während der Organogenese des Hühnerkeimes. II. Veränderungen des knorpeligen Primordialskeletts der Extremitäten und des Rumpfes. Wilhelm Ronx'Archiv 165, 53-86

KOCHER, W. (1972): Chemoteratologisch-genetische Experimente zur Gestaltungsanalyse der Wirbeltierextremität. Rev. Suisse Zool. (Suppl.) 79, 153-164

KOCHER, W. (1977a): Special strains of mice (breeding systems, mutants) in teratological evaluation and planning. Methods in prenatal toxicology (ed. D. Neubert et al.) Stuttgart: Georg Thieme, 72-77

KOCHER, W. (1977b): Action and interaction of chemical and genetic factors in teratogenesis of the limb. Birth defects 13, 1-18

KOCHER, W. and KOCHER-BECKER, U. (1980): Bilaterally symmetric realization of limb malformations. Teratology of the limbs (ed. H.-J. MERKER et al.), Berlin - New York: Walter de Gruyter

KOCHER, W. und SCHERSCHLICHT, R. (1970): Versuche mit einem Radiomimeticum zur Analyse der Gestaltung und der histologischen Differenzierung des Vogelkopfes. Verh. D. Zool. Ges., 64. Tagg., Stuttgart: Gustav Fischer, 29-35

KOCHER, W., BLEY, P., SPRINGER, A. und KOCHER-BECKER, U. (1982): Skeletale Wirkungen eines Gens und eines phänokopierenden Agens bei der Maus. Verh. Dtsch. Zool. Ges. 1982, Stuttgart: Gustav Fischer, 243

LANDAUER, W. (1959): The phenokopy concept: Illusion or reality. Experimentia (Basel) Vol. XV, Fasc. 11, 409-412

McLAREN, A. and MICHIE, D. (1954): Factors affecting vertebral variation in mice. Journ. Embryol. Exper. Morph., 2 149-160

SACHS, L. (1978): Angewandte Statistik. Springer Verlag Berlin - Heidelberg - New York

SCHERSCHLICHT, R. (1973): Mikroskopisch-anatomische Untersuchung der Veränderungen am Kopf des Hühner-Keimes nach TEM-Behandlung während der Organogenese. I. Skelett, Muskulatur, Gehirn, Kopfnerven. Wilh. Ronx'Arch. 173, 83-106

SCHERSCHLICHT, R. (1975): Mikroskopisch-anatomische Untersuchung der Veränderungen am Kopf des Hühner-Keimes nach TEM-Behandlung während der Organogenese. II. Sinnesorgane und Oberschnabel. Wilh. Ronx'Arch. 177, 101-127

THEILER, K. (1972): The house mouse. Springer Verlag Berlin - Heidelberg - New York

Herrn Prof. Dr. W. Kocher danke ich für die Erstellung des Themas, die Überlassung des Untersuchungsmaterials sowie für die anregenden Diskussionen und die stete Betreuung der Arbeit.

Fr. Priv. Doz. Dr. U. Kocher-Becker danke ich für die Hilfe bei der Erstellung der Statistik, die Anregungen und die wohlwollende Kritik, die mir eine große Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit waren.

L e b e n s l a u f

25.08.1953	in Berlin geboren als Tochter der Ärztin Dorothea und des Dipl.-Ing. Max Springer
1960-1966	Besuch der Grundschule in Berlin-Spandau
1966-1973	Besuch des Kant-Gymnasiums in Berlin-Spandau mit Abitur als Abschluß
Feb.-Okt. 1973	Krankenpflegerin im Krankenhaus Hohengatow in Berlin
1973-1975	Ausbildung zur medizinisch-technischen Assistentin mit Staatsexamen als Abschluß an der "Landeslehranstalt für technische Assistenten in der Medizin" in Berlin
1975-1981	Studium der Human-Medizin an der FU-Berlin mit Staatsexamen als Abschluß
seit 1982	Assistenzärztin in der Inneren Abteilung des Evangelischen Waldkrankenhauses Spandau